

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA – DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO: RELATO DE CASO

Renata Dias Rodrigues¹; Rafael Rocha de Souza²; Lara Reis Gomes¹; Luiz Martins da Silva Júnior²; Ana Leticia Daher Aprígio da Silva¹; Alessandra Aparecida Medeiros³

RESUMO

Objetivou-se relatar o diagnóstico parasitológico para Leishmaniose Visceral Canina realizado através da punção de linfonodo e em lâmina de esfregaço sanguíneo em um cão atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia-MG. No exame clínico, observou-se rarefação pilosa generalizada, principalmente na região periocular, lesões crostosas na face e extremidades das orelhas, mucosas oral e ocular levemente hipocoradas e aumento dos linfonodos sub-mandibular, pré-escapulares e poplíteos, além de onicogribose em todos os membros. No exame parasitológico foram visualizadas formas parasitárias de *Leishmania* sp. tanto na punção aspirativa por agulha fina (PAAF) quanto na lâmina de esfregaço sanguíneo. Conclui-se que o teste parasitológico, é um método eficaz no diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina (LVC), pois é uma técnica de baixo custo, rápida execução e elevada sensibilidade, porém em cães assintomáticos pode levar a resultados falso-negativos devido ao baixo número de parasitos contidos nas amostras, logo a associação entre os parâmetros clínicos, epidemiológicos, e sorológicos são necessários para um diagnóstico definitivo.

PALAVRAS-CHAVE: Cão. Citopatologia. Esfregaço sanguíneo.

INTRODUÇÃO

Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma zoonose crônica, causada por um

protozoário intracelular obrigatório do sistema fagocítico mononuclear do gênero *Leishmania*, cuja transmissão ocorre através da picada de um vetor flebotômico (CORTES et al., 2012), a forma promastigota é então inoculada na pele do hospedeiro, fagocitada por células de defesa, e no interior destas perde o flagelo assumindo a forma amastigota (SANTOS-GOMES et al., 2002).

Estudos sugerem que existe a possibilidade de outros ectoparasitas (pulgas e carrapatos) se infectarem com o parasita e transmitirem a doença (CERQUEIRA et al., 2000). Há também a possibilidade de transmissão venérea e transplacentária em trabalhos mais recentes (TEICHMANN et al., 2011). Possui um ciclo de vida heteroxênico, ou seja, precisa se desenvolver tanto no vetor como no hospedeiro vertebrado (SCHLEIN, 1993).

De acordo com Gontijo e Melo (2004) o vetor díptero *Lutzomyia longipalpis*, conhecido popularmente como mosquito palha é o principal vetor da LVC no Brasil, possui sazonalidade, aumentando sua densidade populacional em períodos mais quentes e úmidos (SAVANI, 2004).

A LVC é uma enfermidade sistêmica, logo órgãos e tecidos apresentam alterações, dentre elas: hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, anemia, entre outros. Na pele são observadas lesões nodulares não ulcerativas, escamação, dermatose ulcerativa (FONDEVILA et al., 1997; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

*Artigo recebido em: 17/06/2013

Aceito para publicação em: 10/12/2013

¹Médica Veterinária, Residente Hospital Veterinário - Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Federal de Uberlândia. Av. Mato Grosso, nº 3289 - Bloco 2 s - Campus Umuarama - Uberlândia/MG - CEP.: 38.405-314 Brasil. Email: renatavetufu@gmail.com

²Médico Veterinário, Residente Hospital Veterinário - Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Federal de Uberlândia.

³Médica Veterinária, Professora Doutora da Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Federal de Uberlândia.

De acordo com o Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Uberlândia a situação desta doença está controlada na cidade, com taxa de prevalência de 0,52%, porém é necessário manter o controle com vistorias periódicas em bairros com maior incidência como é o caso da zona norte e medidas preventivas (MONTEIRO, 2011).

O método parasitológico é a forma mais segura de diagnóstico de LCV, a especificidade é de 100%, mas a sensibilidade depende grau do parasitismo, do tipo de material biológico coletado, do seu processamento, coloração e do observador, o qual realiza a observação direta de formas amastigotas do parasito em esfregaços de linfonodos, medula óssea, aspirado esplênico, biópsia hepática e até esfregaços sanguíneos (FEITOSA, 2001; LAURENTI, 2009). Objetivou-se relatar o diagnóstico parasitológico para Leishmaniose Visceral Canina realizado através da punção de linfonodo e em lâmina de esfregaço sanguíneo em um cão atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia-MG.

RELATO DE CASO

No Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, foi atendida uma cadela sem raça definida, com um ano de idade, que residia em um bairro da Zona Norte da cidade de Uberlândia-MG. No exame clínico, observou-se rarefação pilosa generalizada, principalmente na região periocular, lesões crostosas na face e extremidades das orelhas, mucosas oral e ocular levemente hipocoradas e aumento dos linfonodos sub-mandibular, pré-escapulares e poplíteos, além de onicogribose em todos os membros.

Foi realizada uma punção aspirativa por agulha fina (PAAF) nos linfonodos

poplíteos, o material obtido foi colocado em lâmina de vidro e espalhado sobre esta com outra lâmina, a fim de se obter uma camada celular fina, translúcida e homogênea em seguida corada pelo Panótico Rápido® (URBANO et al., 2005). Nesta técnica citopatológica realizada em microscopia com objetiva de 40X, observou-se a presença do cinetoplasto perpendicular ao seu núcleo (Figura 2), o que garante a confirmação diagnóstica deste protozoário, descartando outros parasitas intracelulares (WEBSTER; RUSSEL, 1993; GINN et al., 2006).

Também foi colhido 3 ml de sangue por venopunção cefálica, utilizando anticoagulante ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA a 10%), para realização do hemograma e em seguida confeccionou-se o esfregaço sanguíneo em lâmina de microscopia, sendo a mesma corada pelo May Grunwald Giemsa (MGG). A leitura da lâmina de esfregaço sanguíneo foi realizada em microscópio óptico em objetiva de imersão 100X, na qual foi encontrada formas amastigotas ou aflageladas de *Leishmania* sp. (Figura 1). Em relação ao hemograma, a anemia observada pode ser classificada como normocítica normocrômica, de grau leve a moderado (hemácias – $4,04 \times 10^6$ /mm³, hematócrito – 25,8% e hemoglobina – 8,5 g/dL), concordando com outros autores que obtiveram valores semelhantes de contagem de hemácias e hematócrito (IKEDA-GARCIA et al., 2003; MATTOS Jr et al., 2004). A leucometria encontra-se dentro dos valores normais para a espécie 7800/mm³ (JAIN, 1993). No tocante a contagem diferencial de leucócitos observou-se um desvio à esquerda. O valor da contagem total de plaquetas está dentro dos valores normais para espécie 315000 mm³ (MEINKOTH;CLINKENBEARD, 2000).

Figura 1. Forma aflagelada ou amastigota de *Leishmania* sp. em esfregaço sanguíneo de cadela sem raça definida, um ano de idade, residente em Uberlândia-MG, 2013, corado pelo May Grunwald Giemsa. Objetiva 100X.

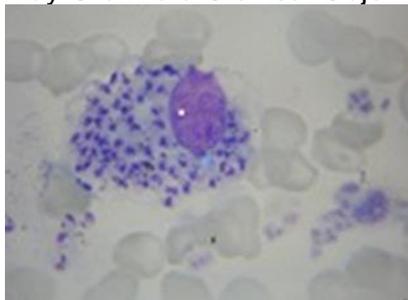
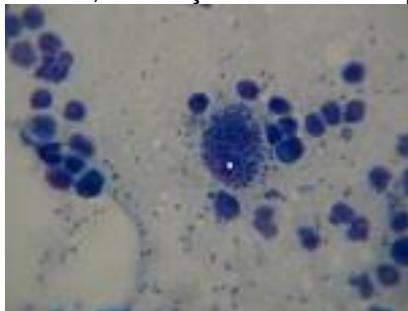


Figura 2. Aspirado de linfonodo poplíteo de cadela sem raça definida, um ano de idade, residente em Uberlândia-MG, 2013. Evidenciando o cinetoplasto perpendicular ao seu núcleo, coloração Panótico Rápido. Objetiva 100X.



DISCUSSÃO

Sabendo que o diagnóstico clínico garante apenas uma suspeita em casos de LVC, devido à inespecificidade dos sinais clínicos, é imprescindível recorrer a outras ferramentas de diagnóstico para confirmação. Neste sentido, o diagnóstico laboratorial parasitológico é a melhor opção, pois evita o embate entre diagnósticos diferenciais (FEITOSA et al, 2006).

Para o diagnóstico desta patologia, há basicamente três tipos de provas utilizadas: métodos sorológicos (imunofluorescência indireta (RIFI) e o ensaio de imunoadsorção ligado à enzima (ELISA), parasitológicos (citopatologia, histopatologia e imuno-histoquímica) ou moleculares (reação de polimerase em cadeia (PCR) que confirmam a presença da *Leishmania* (MARCONDES et al, 2003; BRASIL, 2006). Na atualidade o diagnóstico laboratorial da LVC realizado na rede pública e recomendado pelo Ministério da Saúde é o teste rápido imunocromatográfico, em substituição ao RIFI, denominado TR-DPP (Dual Path Platform), sendo que este apresenta

vantagens e facilidades, tais como: a rapidez, simplicidade, praticidade, realização a partir de uma pequena amostra de sangue total, soro ou plasma, além de não exigir equipamentos laboratoriais específicos e especialização tecnológica, sensibilidade do exame é de 90%. O Elisa é o teste confirmatório, pois permite a realização maior de amostras e fornece resultados automatizados, eliminando a subjetividade da leitura (NOTA TÉCNICA CONJUNTA N°01/2011).

Embora os testes sorológicos sejam indicados pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico de Leishmaniose, Zanette (2006) relata inúmeras prováveis reações cruzadas que ocorrem nos testes de Elisa (doença de Chagas, erliquiose e co-infecção por erliquiose e babesiose), RIFI (toxoplasmose) e imunocromatográfico (erliquiose, co-infecção por erliquiose e babesiose, toxoplasmose, neosporose e co-infecção toxoplasmose e neosporose).

Ainda Zanette (2006) e Laurenti (2009) recomendam como padrão ouro no diagnóstico de Leishmaniose o método parasitológico, pois a observação direta das formas amastigotas do parasito é

irrefutável. Assim, uma vez que foram visualizadas formas parasitárias de *Leishmania* sp. tanto na punção aspirativa por agulha fina (PAAF) quanto na lâmina de esfregaço sanguíneo, o que indica elevado grau de parasitismo, não se fez necessário a realização de provas sorológicas. Diante disso, foi possível confirmar o diagnóstico de LVC associando os sinais clínicos e a epidemiologia da doença.

Por outro lado, a não detecção dessas formas pelo método direto não exclui a possibilidade de o animal ter a doença. Zanette (2006) e Laurenti (2009) advertem ainda para a importância da realização de testes sorológicos de elevada sensibilidade e especificidade para áreas de baixa prevalência de Leishmaniose, como é o caso de Uberlândia, para que se possa estipular a prevalência da doença e definir qual a melhor estratégia de controle epidemiológico a fim de que se reduzam ainda mais esses índices.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o teste parasitológico, é um método eficaz no diagnóstico da LVC, pois é uma técnica de baixo custo, rápida execução e elevada sensibilidade, porém em cães assintomáticos pode levar a resultados falso-negativos devido ao baixo número de parasitos contidos nas amostras, logo a associação entre os parâmetros clínicos, epidemiológicos, e sorológicos são necessários para um diagnóstico definitivo.

CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS – PARASITOLOGICAL DIAGNOSIS

ABSTRACT

This study aimed to report the parasitological diagnosis for Canine Visceral Leishmaniasis performed by puncture of lymph and blood smears in a dog treated at the veterinary hospital of Federal University of Uberlândia. On examination, was observed generalized pilosa rarefaction, especially in the periocular region, crusted lesions on the face and extremities of the ears, ocular

and oral mucous membranes were pale and slightly swollen lymph nodes in sub-mandibular pre-scapular and popliteal, and in all onychogryphosis members. In parasitological examination were viewed parasitic forms of *Leishmania* sp. both in fine needle aspiration (FNA) as the blade blood smears. We conclude that the parasitological test is an effective method in the diagnosis of Canine Visceral Leishmaniasis (CVL), because it is a low cost technique, rapid implementation and high sensitivity, but in asymptomatic dogs can lead to false-negative results due to low number of parasites contained in the samples, then the association between the clinical, epidemiological, serological and are required for a definitive diagnosis.

KEYWORDS: Blood smear. Cytopathology. Dog.

REFERÊNCIAS

BRASIL, Ministério da saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Editora MS, 122p, Brasil, 2006.

BONATES, A. Leishmaniose visceral (calazar). **Veterinary News**, London, v.10, n.61, p.4-5, 2003.

BUSH, B. M. **Interpretação de Resultados Laboratoriais para Clínicos de Pequenos Animais**. São Paulo. Roca, 2004, 376p.

CORTES, S.; VAZ, Y.; NEVES, R.; et al. Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.189, n.2-4, p.189-196, 2012.

CERQUEIRA, E.J.L., SILVA, E.M.; MONTE-ALEGRE, A.F.; et al. Considerações sobre pulgas (Siphonaptera) da raposa *Cercopithecus thous* (Canidae) da area endemic de leishmaniose visceral de Jacobina, Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.33, n.1, p.91-93, 2000.

COSTA-VAL, A. P.; CAVALCANTI, R. R.; GONTIJO, N. F.; et al. Canine visceral

leishmaniasis: Relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. **The Veterinary Journal**, London, v.174, n.3, p.636-643, 2007.

FEITOSA, M. M. **Leishmaniose visceral: um desafio crescente**. São Paulo: Intervet pet, 2001. 15p.

FEITOSA, M. M. Avaliação clínica de animais naturalmente infectados. In: FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 1., 2006. Jaboticabal, **Anais...**, Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006, p. 9-14.

FONDEVILA, D.; VILAFRANCA, M.; FERRER, L.; Epidermal immunocompetence in canine leishmaniasis, **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.56, n.3-4, p.319-327, 1997.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417p.

GINN, P. E.; MANSELL, J. E. K. L.; MAXIE, M. G.; et al. Protozoal diseases of skin, In: JUBB, K. V. E., KENNEDY, P. C., PALMER, N. C., **Pathology of Domestic Animals**, 5ª ed., v.1, cap.5, p. 710-711, 2006.

GOMES, Y.M.; CAVALCANTI, M.P.; LIRA, R.A.; et al. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: Biotechnological advances, **The Veterinary Journal**, London, v.175, n.1, p.45-52, 2008.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v.7, n.3, p.338-349, 2004.

IKEDA-GARCIA, F. A.; CIARLINI, P. C.; FEITOSA, M.M.; et al. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* no município de Araçatuba, São Paulo: estudo retrospectivo de 191 casos. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v.47, p.42-47, 2003.

KRAUSPENHAR, C.; BECK, C.; SPEROTTO, V.; et al. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.907-910, 2007.

LAURENTI, M. D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v.6, n.67, p.13-23, 2009.

MARCONDES, C. B.; PIRMEZ, C.; SILVA, E. S.; et al. Levantamento de leishmaniose visceral em cães de Santa Maria e municípios próximos, Estado do Rio Grande do Sul, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v.36, n.4, p.499-501, 2003.

MATTOS JUNIOR, D. G.; PINHEIRO, J. M.; MENEZES, R. C.; et al. Aspectos clínicos e de laboratório de cães soropositivos para leishmaniose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 1, p. 119-122, 2004.

MEINKOTH, J. H.; CLINKENBEARD, K. D. Normal hematology of the dog. In: FELDMAN, B.F.; ZINKEL, J.G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2000. p.1055-1063.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE/DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Série: Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 120p. 2006.

MONTEIRO, C. Agentes enfrentam resistência para combater leishmaniose. Correio de Uberlândia, 11 jul. 2011. Disponível em: <<http://www.correiodeuberlandia.com.br/cidade-e-regiao/agentes-enfrentam-resistencia-para-combater-leishmaniose/>>. Acesso em: 22 ago.2013.

NOTA TÉCNICA CONJUNTA N°01/2011 – CGDT-CGLAB/DEVIT/SVS/MS. Brasília, 29 de dezembro de 2011.

PAPADOGIANNAKIS, E.I.; KOUTINAS, A.F.; SARIDOMICHELAKIS, M.N.; et al. Cellular immunophenotyping of exfoliative dermatitis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.104, n. 3-4, p. 227–237, 2005.

SANTOS-GOMES, G. M.; ROSA, R.; LEANDRO, C.; et al. Cytokine expression during the outcome of canine experimental infection by *Leishmania infantum*, **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.88, n.1-2, p. 21–30, 2002.

SCHLEIN, Y. *Leishmania* and sandflies: interactions in the life cycle and transmission, **Parasitology Today**, Amsterdam, v.9, n.7, p.255-258, 1993.

SAVANI, E.S. M. M. Aspectos da transmissão de leishmanioses no assentamento Guaicurus, Planalto da Bodoquera, estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, 2002- 3. Infecção natural em animais domésticos e vetores. **Tese (doutorado)** - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. São Paulo-SP; s.n., p.177, 2004.

SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and

prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 165, n.1-2, p.1–18, 2009.

TEICHMANN, C. E.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G.; et al. Evidence of venereal and transplacental transmission of Canine Visceral Leishmaniasis in Southern Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.39, n.4, p.1003, 2011.

URBANO, M.; PORTELA, F.; PONTES, J. M.; et al. Citologia de aspirados por agulha fina ecoendoscopicamente guiada na avaliação de massas pancreáticas suspeitas de malignidade, **Jornal Português de Gastroenterologia**, v.12, p.17-21, 2005.

WEBSTER, P.; RUSSEL, D. G. The flageller pocket of trypanosomatids, **Parasitology Today**, Amsterdam, v.9, n.6, p.201-205, 1993.

ZANETTE, M. F. Comparação entre os métodos de elisa, imunofluorescência indireta e imunocromatografia para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina. 2006. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, SP, 2006.